

⑤

①

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES



PATENTAMT

Int. Cl. 2:

C 07 C 19 52
A 61 K 3

W 1169 - 02

DT 25 00 802 A1

⑪

Offenlegungsschrift 25 00 802

⑫

Aktenzeichen:

P 25 00 802.0

⑬

Anmeldetag:

10. 1. 75

⑭

Offenlegungstag:

17. 7. 75

⑳

Unionspriorität:

③② ③③ ③①

11. 1. 74 Frankreich 7400914

⑤④

Bezeichnung:

N-Acyl-(α - und β -)-asparagylglutaminsäuren und deren Salze, Verfahren zu ihrer Herstellung und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel

⑦①

Anmelder:

Ferlux S.A., Cournon d'Auvergne; Orsan, Paris (Frankreich)

⑦④

Vertreter:

Charrier, R., Dipl.-Ing., Pat.-Anw., 8900 Augsburg

⑦②

Erfinder:

Chibret, Georges, Cournon d'Auvergne; Duc, Nguyen-Cong, Paris (Frankreich)

DT 25 00 802 A1

© 7. 75 509 829/997

18/100

BEST AVAILABLE COPY

10. JAN. 1975

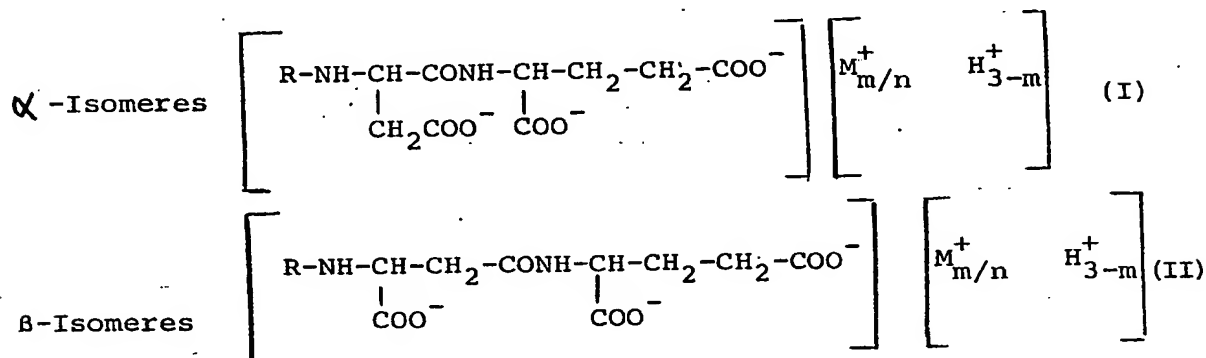
tM/th

SOCIETE FERLUX S.A. und SOCIETE ORSAN

N-Acyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren
und deren Salze, Verfahren zu ihrer Herstellung
und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel.

Die Erfindung betrifft N-Acyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren und deren Salze, ein Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen sowie diese Substanzen als Wirkstoffe enthaltende Arzneimittel.

Bei den erfindungsgemäßen Verbindungen handelt es sich um N-Acyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren und deren Salze, die durch die folgenden allgemeinen Formeln I (für das α -Isomere) und II (für das β -Isomere) wiedergegeben werden können:



in denen

M ein Kation mit der Valenz n, das entweder ein Metallkation, insbesondere ein Kation eines Alkalimetalles, wie Lithium, Natrium, Kalium, oder ein Kation eines Erdalkalimetalls, wie Magnesium, Strontium oder Calcium; oder ein Kation von organischen Verbindungen, darunter insbesondere von Aminoalkoholen, wie Dimethylaminoäthanol oder Diäthylaminoäthanol oder von quartären Ammoniumverbindungen von der Art der Betaine oder der Choline, wie insbesondere Betain oder Cholin als solche oder Acetylcholin, oder von Aminosäuren, wie Lysin, Ornithin oder Arginin,

R eine Acyl-Gruppe und

m eine von der Anzahl der in die Salzform überführten Carboxy-Gruppen abhängige Zahl mit einem Wert von 0 bis 3, mit der Maßgabe, daß sie nicht 0 ist, wenn die Gruppe R eine Acetyl-Gruppe darstellt, bedeuten.

509829/0997

Die erfindungsgemäßen Säuren und deren Salze können entweder in der α -Form vorliegen, die der obigen allgemeinen Formel I entspricht, oder in der β -Form vorliegen, die durch die obige allgemeine Formel II wiedergegeben ist, oder können in Form einer Mischung aus den obengenannten α - und β -Isomeren in einem wohldefinierten Verhältnis vorliegen.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind Produkte, die in biologischer Hinsicht nützlich sind. Sie ermöglichen die Einführung eines Asparagyl-glutaminsäurepeptids, dessen Struktur derjenigen von gewissen natürlichen Substanzen entspricht, die bereits in Tiergeweben nachgewiesen wurden, in den tierischen oder menschlichen Organismus.

Bei den bevorzugten erfindungsgemäßen Verbindungen handelt es sich um jene Produkte, bei denen die Gruppe R eine Formyl-Gruppe, eine Propionyl-Gruppe, eine Isopropionyl-Gruppe, eine Butyryl-Gruppe, eine Isobutyryl-Gruppe oder eine tert.-Butyryl-Gruppe bedeutet.

Weitere erfindungsgemäße Verbindungen sind die Salze, bei denen m nicht den Wert 0 besitzt, wobei die Gruppe R mit Vorteil eine Acetyl-Gruppe darstellt. Es hat sich insbesondere gezeigt, daß die pharmakologischen Eigenschaften der N-Acyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren durch die Anwesenheit der Kationen der Alkalimetalle oder der Erdalkalimetalle, der Aminoalkohole, der Aminosäuren oder der quartären Ammoniumverbindungen und insbesondere der bereits angegebenen Kationen dieser Art gefördert oder verstärkt werden. Die Verbindungen üben eine pharmakologische Wirkung auf das zentrale Nervensystem aus, die derjenigen der entsprechenden Säuren überlegen ist, ohne daß sich die Nachteile von anderen Verbindungen mit den gleichen Kationen ergeben, beispielsweise was die Toxizität anbetrifft.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen wirken selektiv in dem Bereich des zentralen Nervensystems und ihre therapeutische Wirkung betrifft das Allgemeinverhalten, so daß sie insbesondere nützlich

sind zur Behandlung von Zerebralerstörungen, Schockzuständen, Schwächezuständen, Depressionszuständen, Gedächtnisschwächen, Schwierigkeiten bei der Beruhigung nach wiederholten Anstrengungen und gegebenenfalls motorischen Schwächezuständen, die ihre Ursache in Zerebralerstörungen haben.

Neben ihrer Wirkung auf das zentrale Nervensystem zeigen sie weitere Eigenschaften, darunter eine kardiovaskuläre Aktivität.

Aufgrund dieser Eigenschaften unterscheiden sich die erfindungsgemäßen Verbindungen von der N-Acetyl-L-asparagyl-glutaminsäure, die bereits in der Literatur beschrieben wurde und deren Ester, wie dem Diäthylester der N-Acetyl- β -L-asparagyl-L-glutaminsäure.

Die Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung der N-Acyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren, einschließlich der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren, und der Salze dieser Verbindungen.

Die bislang zur Herstellung der bekannten Verbindungen angewandten Verfahrensweisen sind insbesondere auf den Laboratoriumsmaßstab anwendbar. Sie erfordern zusätzlich die Anwendung von Lösungsmitteln oder von aufwendigen Lösungsmittelkombinationen. Aufgrund dieser Tatsachen ergeben sich fast unüberwindbare Schwierigkeiten bei der Übertragung dieser Verfahrensweisen in den technischen Maßstab. Demgegenüber wird erfindungsgemäß ein Verfahren bereitgestellt, das mit Vorteil in industriellem Maßstab angewandt werden kann, da es im wesentlichen in zwei aufeinanderfolgenden Stufen abläuft, die in Gegenwart eines einfachen und klassischen Lösungsmittels, wie Wasser durchgeführt werden. Weiterhin erhält man das Produkt direkt in der vorteilhaftesten Form, nämlich der Salzform, wodurch es vermieden wird, als Zwischenprodukt die Säure oder den Ester zu bereiten.

509829/0997

Das erfindungsgemäße Verfahren besteht darin, daß man ein Salz der Glutaminsäure in einem polaren Lösungsmittel, wie Wasser, mit dem Anhydrid der entsprechenden N-Acyl-asparaginsäure umsetzt, wodurch man eine wässrige Lösung der Salze der allgemeinen Formel I oder II erhält, deren Kationen anschließend gegebenenfalls zur Bildung der entsprechenden Säuren durch Wasserstoffionen ersetzt werden können.

Das Anhydrid der N-Acyl-asparaginsäure bereitet man vorzugsweise durch Einwirkung des der Acyl-Gruppe R der hergestellten Verbindung entsprechenden Anhydrids auf ein Salz der Asparaginsäure, Abtrennen der gebildeten N-Acyl-Asparaginsäure und deren Umsetzung mit einer neuen Menge des gleichen Anhydrids.

Die für die Durchführung des Verfahrens bevorzugten Bedingungen ergeben sich aus der folgenden Beschreibung, die genauere Einzelheiten des Mechanismus der Reaktion des erfindungsgemäßen Verfahrens und den Einfluß verschiedener Parameter, wie der Temperatur, des pH-Werts, der relativen Konzentrationen der Reaktionspartner, die Reihenfolge und die Geschwindigkeit ihrer Zugabe auf diese Reaktion angibt.

Erfindungsgemäß erfolgt die Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formeln I und II mit Vorteil in zwei Stufen wie folgt:

1. Stufe: N-Acyl-asparaginsäureanhydrid.

Diese Verbindung entspricht der folgenden allgemeinen Formel III

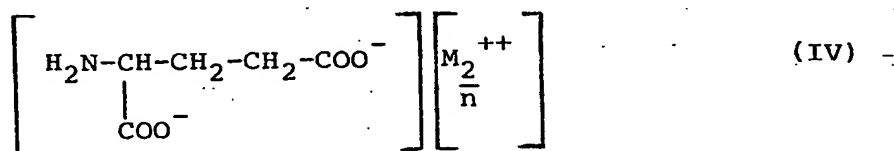


in der die Gruppe R die oben angegebenen Bedeutungen besitzt.

In einer ersten Stufe setzt man ein Anhydrid (A), das der Acyl-Gruppe R entspricht, in wässrigem Medium mit einem Salz der Asparaginsäure, insbesondere dem Calciumsalz der Asparaginsäure, um und behandelt dann in einer zweiten Stufe die aus dem Reaktionsmedium isolierte N-Acyl-asparaginsäure mit einer neuen Menge des Anhydrids (A), wodurch man zu dem N-Acyl-asparaginsäureanhydrid der allgemeinen Formel III gelangt.

2. Stufe: Herstellung der N-Acyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäureverbindungen der allgemeinen Formeln I und II

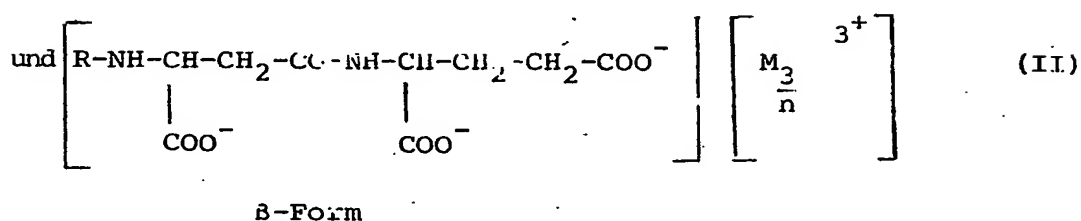
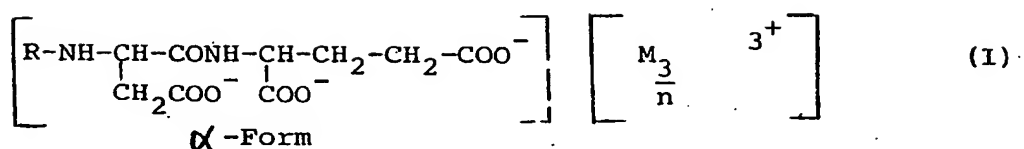
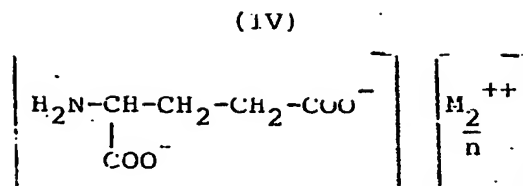
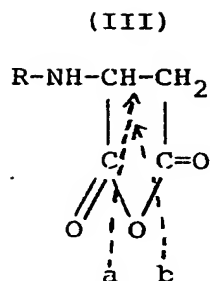
Es erfolgt eine Peptidkondensation in wässrigem Medium zwischen dem N-Acyl-asparaginsäureanhydrid der allgemeinen Formel III und einem Glutaminsäuresalz der folgenden allgemeinen Formel IV



in der M die oben angegebenen Bedeutungen besitzt.

Die Reaktion kann schematisch wie folgt wiedergegeben werden:

509829/0997



Wenn die Öffnung des Anhydridrings entsprechend dem in dem obigen Reaktionsschema angegebenen Pfeil "a" erfolgt, erhält man das gewünschte Produkt in der α -Form, während die Spaltung entsprechend dem Pfeil "b" zu dem Produkt in der β -Form führt.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens verfährt man wie folgt:

Man bereitet die wässrige Lösung des Glutaminsäuresalzes entweder dadurch, daß man dieses Salz direkt in Wasser löst oder daß man sie in situ dadurch bildet, daß man eine das genannte Kation M liefernde Base in eine wässrige Glutaminsäuresuspension einbringt und den pH-Wert der Lösung auf einen Wert zwischen 5 und 9, vorzugsweise zwischen 6 und 8 bringt.

509829/0997

ORIGINAL INSPECTED

Die Einführung des N-Acyl-asparaginsäureanhydrids in das Reaktionsmedium führt zu einer praktisch augenblicklichen Verminderung des pH-Wertes, den man durch die gleichzeitige Zugabe der die Glutaminsäure in das Salz überführenden Base in dem angegebenen Intervall hält.

Vorzugsweise wendet man bei dieser Reaktion die in das Salz überführte Glutaminsäure und das Anhydrid der N-Acyl-asparaginsäure in stöchiometrischen Mengenverhältnissen und Konzentrationen zwischen 0,5 und 1,5 Mol pro Liter, vorzugsweise zwischen 0,7 und 1,1 Mol pro Liter an, wobei die maximale Abweichung gegenüber den stöchiometrischen Mengenverhältnissen 10% beträgt.

Die Auswahl der oben erwähnten Konzentrationsintervalle ist durch die Tatsache bedingt, daß bei Konzentrationen oberhalb 1,5 Mol pro Liter die Steuerung der Temperatur und des pH-Werts schwierig wird und bei Konzentrationen unterhalb 0,5 Mol pro Liter eine verstärkte Hydrolyse des Anhydrids der allgemeinen Formel III auf Kosten der Peptidkondensation erfolgt. Diese Hydrolyse hängt ebenfalls von der Steigerung der Temperatur des Reaktionsmediums ab.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform des Verfahrens zur Herstellung der erfindungsgemäßen Produkte hält man die Temperatur des Reaktionsmediums zwischen -5°C und $+25^{\circ}\text{C}$, wobei man am vorteilhaftesten bei der für die verwendete Base niedrigstmöglichen Temperatur arbeitet. Da die Peptidkondensation eine exotherme Reaktion ist, hält man die Temperatur in dem angegebenen Bereich, indem man in entsprechender Weise von außen kühlt und/oder indem man nach und nach Eis in das Reaktionsmedium einträgt.

Beim Einhalten der oben angegebenen Bedingungen kann man die Hydrolysereaktionen des Anhydrids der allgemeinen Formel III praktisch vermeiden, so daß der Gehalt an freier Glutaminsäure, die nicht mit der N-Acyl-asparaginsäure kondensiert worden ist, auf einem sehr geringen Wert gehalten werden kann.

509829/0997

ORIGINAL INSPECTED

Wenn man das Verfahren unter Anwendung der oben angegebenen Reaktionsbedingungen durchführt, so erhält man die erfindungsgemäßen Verbindungen in Form von wässrigen Lösungen ihrer Salze der α - und der β -Form, deren Verhältnisse von den angewandten Bedingungen abhängen.

Nach dem Einengen der schließlich erhaltenen wässrigen Lösung im Vakuum kann man die Mischung dieser Salze entweder durch Gefriertrocknen oder durch Sprühtrocknen oder mit Hilfe eines anderen geeigneten Trocknungsverfahrens in fester Form gewinnen.

Die in dieser Weise erhaltene Mischung kann verschiedenen Anwendungszwecken, insbesondere der Verwendung für therapeutische Zwecke zugeführt werden, ohne daß es notwendig ist, die genannten Isomerenformen voneinander zu trennen.

Erfindungsgemäß werden bei dem Verfahren zur Herstellung der entsprechenden Säuren als Ausgangsmaterialien Salze verwendet, die den oben angegebenen allgemeinen Formeln I und II entsprechen.

Man behandelt die Lösung dieser Salze, bei der es sich entweder um die bei dem obigen Verfahren als Endprodukt erhaltene Lösung oder eine Lösung handeln kann, die man durch Auflösen der in fester Form gewonnenen Mischung der (α - und β -)-Verbindungen in entmineralisiertem Wasser erhält, indem man sie über ein Kationenaustauscherharz vom Arylsulfonsäuretyp führt, das die Metallkationen und die nicht umgesetzte Glutaminsäure zurückhält. Anschließend führt die Abtrennung der gegebenenfalls in der wässrigen Lösung in geringer Menge vorhandenen N-Acyl-asparaginsäure durch Molekülfiltration über ein Dextrangel zu N-Acyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren mit sehr zufriedenstellendem Reinheitsgrad.

Die Reinigung der erfindungsgemäßen Salze kann mit Vorteil dadurch bewirkt werden, daß man diese Salze in der obigen Weise in die entsprechenden Säuren überführt. Anschließend wandelt man

509829/0997

ORIGINAL INSPECTED

die in dieser Weise erhaltenen Säuren in wässriger Lösung unter der Kontrolle eines pH-Meßgerätes mit Hilfe der Base, die die Bildung des Ausgangssalzes ermöglicht, erneut in die Salze um.

Dieses Verfahren zur Reinigung durch Umwandeln dieser Salze in die entsprechenden Säuren kann mit Vorteil zur Herstellung neuer Salze angewandt werden. Mit Hilfe dieser Technik der direkten Salzbildung der Säuren bereitet man die Salze mit organischen Verbindungen, wie mit den Aminoalkoholen, den quartären Ammoniumverbindungen, den Aminosäuren etc.

Das prozentuale Verhältnis der α -Form und der β -Form, in der die Salze und die Säuren in den mit Hilfe des oben beschriebenen erfindungsgemäßen Verfahrens erhaltenen Mischungen vorhanden sind, kann mit Hilfe bekannter physikalischer Analysemethoden bestimmt werden, insbesondere mit Hilfe der Papierelektrophorese.

Die Anreicherung dieser Mischungen bezüglich einer der α - oder der β -Formen erfolgt in Abhängigkeit von den Anwendungszwecken und kann vorzugsweise durch fraktionierte Kristallisation erreicht werden, wodurch es möglich wird, die α -Form und die β -Form in getrennter Form zu gewinnen.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen besitzen interessante pharmakologische Eigenschaften, die sich bei Tierversuchen im Laboratorium zeigen. Diese Verbindungen zeigen ermutigende Ergebnisse im Zerebralbereich. Weiterhin hat es sich gezeigt, daß die Wirkung der oben erwähnten Produkte stärker ist, wenn die Tiere sich in einem pathologischen Zustand befinden, was beispielsweise im Verlaufe einer durch einen Elektroschock verursachten Amnesie der Fall ist.

Die erfindungsgemäßen Produkte, die frei von allgemeinen toxischen Wirkungen sind, besitzen insbesondere ein starkes Interesse aufgrund ihrer thymoanaleptischen Eigenschaften, ihrer Antiamnesie-Eigenschaften sowie ihrer herzstimulierenden Eigenschaften.

509829/0997

ORIGINAL INSPECTED

Gegenstand der Erfindung sind daher auch pharmazeutische Zubereitungen oder Arzneimittel, die neben üblichen Bindemitteln oder Trägermaterialien eine oder mehrere der erfindungsgemäßen Verbindungen als Wirkstoffe enthalten. Die auf oralem oder parenteralem Wege zu verabreichenden pharmazeutischen Zubereitungen können in Form von einfachen Tabletten oder Dragees, die gegebenenfalls zum Zwecke einer Wirkstofffreisetzung im Darm oder einer verzögerten Wirkstofffreisetzung umhüllt sein können, in Form von Kapseln, Gelkügelchen, Lösungen oder Ampullen mit trinkbarem oder injizierbarem Inhalt vorliegen und werden üblicherweise mit Hilfe der für die einzelnen Anwendungsformen geeigneten Trägermaterialien und Bindemittel hergestellt.

Die folgenden Beispiele dienen der weiteren Erläuterung der Erfindung.

Um die Ergebnisse der in den Beispielen angegebenen pharmakologischen Untersuchungen zu vereinheitlichen, sind die angewandten Dosierungen, in denen die erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden, in einer Menge ausgewählt worden, die derjenigen der N-Acetyl-(α - und β)-asparagyl-glutaminsäuren (NAAGA) äquivalent ist. Sie sind als Menge des wasserfreien Produktes angegeben.

Beispiel 1

Natriumsalze der N-Acetyl-(α - und β)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren.

a) Bildung des N-Acetyl-L-asparaginsäureanhydrids

Man beschickt einen 1000 ml-Reaktionskolben, der mit einem Rührer und einem mit einem Calciumchloridröhrchen versehenen aufsteigenden Kühler ausgerüstet ist, mit 1 Mol (175 g) N-Acetyl-L-asparaginsäure und 240 ml (das heißt etwa 2,5 Mol) Essigsäureanhydrid.

Man rührt die Mischung während 30 Minuten bei 60°C, kühlt dann auf 20°C ab und rührt weitere 6 Stunden. Man filtriert die Kristalle des N-Acetyl-L-asparaginsäureanhydrids von dem Reaktionsmedium ab, wäscht sie mit 1,2-Dichloräthan und trocknet sie im Vakuum. Das Produkt besitzt die folgenden physikalischen Kenndaten:

Schmelzpunkt (Kofler) = 180°C

$(\alpha)_{20}^D = -48^\circ$ (c = 2,5 in Essigsäureanhydrid)

b) Peptidkondensation

Man beschickt einen 1000 ml-Reaktionskolben, der mit einem Rührer, einem Tropftrichter, einem Feststofftrichter und einer mit einem pH-Meßgerät verbundenen Elektrode ausgerüstet ist, nach und nach unter gutem Rühren mit 147 g (1 Mol) L-Glutaminsäure und 900 ml entmineralisiertem Wasser und setzt dann 82 g (1 Mol) einer 49%igen Natriumhydroxidlösung zu, um den pH-Wert des Mediums auf etwa 7,7 zu bringen. Dann kühlt man die Reaktionsmischung mit einem Salzbad auf 0°C ab und setzt im Verlaufe von 15 Minuten portionsweise 157 g (1 Mol) kristallisiertes N-Acetyl-L-asparaginsäureanhydrid und gleichzeitig über den Tropftrichter 167 g einer 49%igen Natriumhydroxidlösung zusammen mit 200 g Eis zu, um die Temperatur zwischen 0°C und +5°C zu halten (wobei die Zugabe der Reaktionsteilnehmer derart erfolgt, daß der pH-Wert zwischen 6 und 8 bleibt), wobei man schließlich gegen Ende der Zugabe in dem Reaktionsmedium einen pH-Wert von etwa 7,30 erreicht.

Dann wird das Reaktionsmedium während weiterer 2 Stunden gerührt, wonach man die Lösung in einem Vakuum von 20 mmHg und bei einer Temperatur von unter 50°C einengt. Die erhaltene wässrige Lösung, die 53% des Produktes enthält, besitzt folgende physikalische Kenndaten:

pH-Wert bei 20°C = 7,40

$(\alpha)_{20}^D = -11,6^\circ$ (nach dem Ansäuern mit HCl)

509829/0997

Analyse: $C_{11}H_{13}N_2O_8Na_3$

	C %	H %	N %	Na %
ber.:	35,69	3,54	7,56	18,63
gef.:	35,56	3,33	8,00	18,66

Beispiel 2

Kaliumsalze der N-Propionyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren.

Man verfährt nach der in Beispiel 1 beschriebenen Verfahrensweise, indem man Kaliumglutamat verwendet. Diese Verbindung erhält man durch Neutralisieren einer Lösung von 486 g Glutaminsäure in 2750 ml entmineralisiertem Wasser unter Kühlen mit Hilfe von 383,7 g 85%iger Kaliumhydroxidplätzchen.

Man bringt dann die Temperatur der Reaktionsmischung auf 0°C und setzt unter gutem Rühren portionsweise 510 g N-Propionyl-asparaginsäureanhydrid zu. Man hält die Temperatur des Reaktionsmediums während der ersten 15 Minuten durch Zugabe von Eis zwischen 0°C und +2°C. Man hält den pH-Wert durch progressive Zugabe von 680 g einer 50%igen, wässrigen Kaliumhydroxidlösung auf einem Wert zwischen 6 und 8. Die Zugabe der Reaktionsteilnehmer erfolgt im Verlaufe von etwa 30 Minuten, wonach der pH-Wert des Reaktionsmediums 7,50 beträgt. Die Ausbeute, in der man das gefriergetrocknete N-acylierte Peptidprodukt erhält, beträgt 97%, bezogen auf die als Ausgangsmaterial eingesetzte Menge Kaliumglutamat.

Die durch Gefriertrocknen erhaltenen Kaliumsalze der N-Propionyl (α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren liegen in Form eines weißen Pulvers vor, das 11% Wasser enthält.

Analyse: $C_{12}H_{15}N_2O_8K_3$

	C %	H %	N %	K %
ber.:	33,32	3,49	6,47	27,12
gef.:	33,27	3,50	6,47	26,85

509829/0997

Beispiel 3

Lithiumsalze der N-Butyryl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren.

Man beschickt ein 5000 ml-Reaktionsgefäß, das mit einem Tropftrichter, einem Rührer, einem Feststoffeinfülltrichter und einer mit einem pH-Meßgerät verbundenen Elektrode ausgerüstet ist, nach und nach mit 707,7 g Glutaminsäure, 625 ml entmineralisiertem Wasser und 407 g Lithiumhydroxid ($\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$) (pH = 7,6). Man kühlt auf 0°C ab und gibt unter Rühren im Verlaufe von 30 Minuten portionsweise 196,5 g N-Butyryl-asparaginsäureanhydrid und 250 g Eis zu. Man hält den pH-Wert des Reaktionsmediums durch progressive Zugabe von 850 g einer wässrigen, 15%igen Lithiumhydroxidlösung auf einem Wert von 7,25.

Durch Gefriertrocknen erhält man die Lithiumsalze der N-Butyryl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren in Form eines weißen Pulvers, das 13,40% Wasser enthält.

Analyse: $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_8\text{Li}_3$

	C %	H %	N %	Li %
ber.:	44,60	4,89	8,00	5,95
gef.:	44,98	4,73	8,22	5,98

Beispiel 4

Lithiumsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren (Verbindung Nr. 1).

Nach der in Beispiel 3 beschriebenen Weise erhält man ausgehend von N-Acetyl-asparaginsäureanhydrid die Lithiumsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren mit einer Ausbeute von 84%. Durch Gefriertrocknen der wässrigen Lösung dieser Salze erhält man ein weißes Pulver, das 11% Wasser enthält.

509829/0997

Analyse: $C_{11}H_{13}N_2O_8Li_3$

	C %	H %	N %	Li %
ber.:	41,02	4,07	8,70	6,46
gef.:	41,07	4,28	8,75	6,65

Beispiel 5

Calciumsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren (Verbindung Nr. 2).

Ausgehend von 14,7 g (0,1 Mol) Glutaminsäure in 100 ml Wasser und 9,5 g wasserfreiem Calciumoxid bereitet man Calciumglutamat. Dann gibt man im Verlaufe von 15 Minuten 15,7 g N-Acetyl-asparaginsäureanhydrid zu, wobei der pH-Wert des Reaktionsmediums wegen der geringen Löslichkeit des Calciumoxids bei 0°C, der Temperatur des Reaktionsmediums, praktisch konstant bei 8,2 bleibt.

Nach Beendigung der Zugabe rührt man während weiterer 15 Minuten bei 0°C. Durch Gefriertrocknen erhält man die Calciumsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren mit einer Ausbeute von 80% in Form eines weißen Pulvers, das 11,1% Wasser enthält.

Analyse: $C_{22}H_{26}N_4O_{16}Ca_3$

	C %	H %	N %	Ca %
ber.:	36,45	3,62	7,73	16,59
gef.:	36,66	3,50	7,80	16,42

Beispiel 6

Magnesiumsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren (Verbindung Nr. 3).

Zur Bildung von Magnesiumglutamat setzt man in 2500 ml Wasser unter Rühren 473 g Glutaminsäure mit 230 g Magnesiumoxid um. Unter Aufrechterhaltung einer Temperatur der Reaktionsmischung von 25°C gibt man anschließend 460 g N-Acetyl-asparaginsäure-anhydrid

509829/0997

im Verlaufe von 30 Minuten portionsweise zu (wobei der pH-Wert des Reaktionsmediums nicht kleiner als 8 werden darf). Dann rührt man während weiterer 2 Stunden.

Man trocknet die aus dem Reaktionsmedium isolierten Magnesiumsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren im Vakuumofen bei 60°C. Man erzielt eine Ausbeute von 95%. Die Salze liegen in Form eines weißen, kristallinen Pulvers vor, das 26% Wasser enthält.

Analyse: $C_{22}H_{26}N_4O_{16}Mg_3$

	C %	H %	N %	Mg %
ber.:	39,11	3,88	8,29	10,79
gef.:	38,83	3,98	8,49	10,71

Beispiel 7

L-Lysinsalz der N-Acetyl-(α - und β -)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren.

Man führt eine Lösung der gemäß Beispiel 1 hergestellten Natriumsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren in 3500 ml entmineralisiertem Wasser über ein Kationenaustauscherharz (IRC 120), wobei man einen Durchsatz von 2 Volumen Lösung pro Volumen Harz und pro Stunde anwendet.

Nach der Überführung über das Kationenaustauscherharz wäscht man das Harz systematisch. Die Waschwässer, die mit der wässrigen Lösung vereinigt werden, die durch das Harzbett geführt worden ist, werden über ein Dextrangel (Sephadex G-10) filtriert, um die N-Acetyl-L-asparaginsäure-Spuren zu entfernen, die sich durch eine Hydrolyse des Anhydrids während der Peptidkondensation gebildet haben.

Die erhaltene Lösung kann gefriergetrocknet werden, so daß man die N-Acetyl-(α und β -)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren in Form eines weißen Pulvers erhält.

ORIGINAL INSPECTED

509829/0997

Optischer Drehwert: $(\alpha)_{20}^D = -30^\circ$ (c = 1% in Wasser)

Analyse: $C_{11}H_{16}N_2O_8$

	C %	H %	N %
ber.:	43,42	5,26	9,21
gef.:	42,61	5,26	9,02

Der Prozentsatz der α - und β -Isomeren in dem gefriergetrockneten Produkt wird elektrophoretisch bestimmt, indem man die Flecken auf dem elektrophoretisch erhaltenen Diagramm mit denen von Referenzprodukten vergleicht, die in der Literatur beschrieben sind.

Die isomeren Peptide werden in Form einer 1%igen wässrigen Lösung auf Whatman-Papier Nr. 1 aufgetragen und während einer Stunde bei einer Spannung von 20 V/cm in einem Pyridin/Essigsäure/Wasser-Puffer (1/10/189 Volumen) mit einem pH-Wert von 3,4 einer Elektrophorese unterzogen. Die α - und β -Peptide werden mit Hilfe des Schweppe-Reagens nach dem Besprühen und Erhitzen während 10 Minuten auf 100°C in Form von braunen Flecken sichtbar gemacht.

Die nach dem Reinigen mit Hilfe des Kationenaustauscherharzes und der Molekularfiltration erhaltene wässrige Lösung der N-Acetyl-(α - und β)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren wird dann in einem Vakuum von 20 mmHg bei einer Temperatur unter 50°C eingeeengt, so daß man einen Sirup mit 50° Brix und einer Dichte $d_4^{20^\circ C}$ von 1,269 g/cm³ erhält. Man bildet das L-Lysin-Salz durch Zugabe der Aminosäure in stöchiometrischer Menge, was man mit Hilfe eines pH-Meßgerätes steuert. Die Endlösung besitzt einen pH-Wert von 6,8 und weist einen Stickstoffgehalt von 7,6% auf, was einer Reinheit des wasserfreien Salzes von 49,5% entspricht. Durch Gefriertrocknen dieser Lösung erhält man die Lysinsalze der N-Acetyl-(α - und β)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren in Form eines Pulvers.

509829/0997

Analyse: $C_{29}H_{58}N_8O_{14}$

	C %	H %	N %
ber.:	46,89	7,87	15,08
gef.:	46,52	7,93	15,35

Beispiel 8

L-Argininsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren.

Man bereitet diese Verbindungen nach der in Beispiel 7 beschriebenen Verfahrensweise, wobei man als salzbildende Base L-Arginin einsetzt. Die vollständige Überführung des Peptids in das Salz ergibt eine Lösung mit einem pH-Wert von 6,90. Die wässrige Endlösung enthält 51,3% des wasserfreien Salzes. Das durch Gefriertrocknen isolierte Produkt liegt in Form eines Pulvers vor.

Analyse: $C_{29}H_{58}N_{14}O_{14}$

	C %	H %	N %
ber.:	42,12	7,07	23,71
gef.:	42,51	7,24	23,68

Beispiel 9

L-Ornithinsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren.

Man erhält diese Salze nach dem in Beispiel 7 beschriebenen Verfahren durch Umsetzen von L-Ornithin mit der wässrigen Lösung der N-Acetyl-(α - und β -)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren.

Gegen Ende der Salzbildung beträgt der pH-Wert der Lösung 6,90. Der Gesamtstickstoffgehalt beträgt 8,27% und entspricht einer Lösung, die 52% des Salzes enthält, das man durch Gefriertrocknen isoliert.

509829/0997

Analyse: $C_{26}H_{42}N_8O_{14}$

	C %	H %	N %
ber.:	45,21	6,13	16,22
gef.:	45,18	6,28	15,90

Beispiel 10

N-Butyryl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren.

Man bereitet diese Säuren nach der in Beispiel 7 beschriebenen Verfahrensweise durch Überführen der nach Beispiel 3 beschriebenen Lithiumsalze über das Kationenaustauscherharz.

Die Säuren werden aus dem wässrigen Medium entweder durch Gefrier-trocknen oder durch Sprühtrocknen gewonnen und liegen in Form eines Pulvers vor.

Analyse: $C_{13}H_{20}N_2O_8$

	C %	H %	N %
ber.:	46,99	6,07	8,43
gef.:	46,12	6,10	8,07

Beispiel 11

Dimethylaminoäthanol-salz der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren (Verbindung Nr. 4).

Man erhält diese Salze dadurch, daß man den gemäß dem Verfahren des Beispiels 7 erhaltenen Sirup mit einer Dichte d_4^{20} von 1,269 g/cm³ bei 0°C in Gegenwart von Dimethylaminoäthanol in das Salz überführt.

Man setzt 24 g Dimethylaminoäthanol in Form einer Lösung in 60 ml entmineralisiertem Wasser zu 43,9 g dieses Sirups.

Man erhält eine Salzlösung mit einem pH-Wert von 5,90, einem Stickstoffgehalt von 5,90% und einer Salzkonzentration von 48%.

Optischer Drehwert: $(\alpha)_{20}^D = -7,20^\circ$ (angesäuerte Lösung mit einer Konzentration von 5%)

Analyse: $C_{23}H_{49}O_{11}N_5$

	C %	H %	N %
ber.:	48,58	8,68	12,32
gef.:	48,10	8,40	12,29

Beispiel 12

Diäthylaminoäthanol-salze der N-Acetyl- (α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren.

Man verfährt nach der in Beispiel 11 beschriebenen Verfahrensweise unter Einsatz von Diäthylaminoäthanol. Die erhaltene Lösung besitzt die folgenden charakteristischen Eigenschaften:

pH-Wert = 6,5

Gesamtstickstoffgehalt = 5,50%

Die Lösung enthält 51% des Salzes, das man durch Gefriertrocknen isoliert.

Analyse: $C_{29}H_{61}O_{11}N_5$

	C %	H %	N %
ber.:	53,11	9,37	10,68
gef.:	53,00	9,10	10,78

Beispiel 13

Untersuchung der fördernden Wirkung auf das Wiederholungslernvermögen der Ratte.

Wasserlabyrinth-Test.

Dieser Test wurde von C.Giurgea und F.Mouravieff-Lesuisse (J.Pharmac. (Paris) 1972, 3 (I), Seiten 17 bis 30) entwickelt. Die Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen auf das Lernvermögen von Ratten wird mit Hilfe des Wasserlabyrinth-Tests ermittelt, bei dem normale Ratten und Ratten verwendet werden,

509829/0997

die mit Hilfe eines Elektroschocks eine Amnesie erlitten haben.

Als Vergleichssubstanz verwendet man 2-(2-Oxo-pyrrolidin-1-yl)-acetamid oder Piracetam. Parallel dazu werden die Wirkungen der N-Acetyl-(α - und β -)-L-asparagyl-L-glutaminsäuren oder NAAGA untersucht.

Methode:

Die Untersuchung erfolgt in einem Labyrinth, das mit Wasser mit einer Temperatur von 15°C gefüllt ist. Der Ausgang wird durch ein geneigtes Gitter gebildet, auf das die Ratten zum Verlassen des Wassers klettern müssen. Die Untersuchung erfolgt mit Hilfe von männlichen Sprague Dawley-Ratten mit einem mittleren Gewicht von 120 g.

Zunächst wird eine Vorauswahl durchgeführt. Es werden lediglich jene Ratten eingesetzt, die nicht in der Lage sind, im Verlaufe von 5 Minuten das Gitter des Ausgangs zu finden.

Die eigentliche Untersuchung erfolgt im Verlaufe von 3 Tagen. Während der ersten beiden Tage werden die zu untersuchenden Verbindungen 2 mal täglich am Morgen und am Nachmittag auf intraperitonealem Wege verabreicht. Jedesmal werden die Tiere 30 Minuten nach der Verabreichung des zu untersuchenden Produktes mit Hilfe des Labyrinth-Tests untersucht.

Am dritten Tage unterwirft man die Tiere 30 Minuten nach der Verabreichung des zu untersuchenden Produktes einem Elektroschock, der von Krämpfen begleitet wird. Anschließend führt man den Labyrinth-Test zweimal durch, nämlich 15 Minuten und 60 Minuten nach dem Elektroschock.

Bei allen Untersuchungen bestimmt man die Zeit, die die Ratten benötigen, um den Ausgang des Labyrinths zu finden und berechnet den Prozentsatz der Verminderung dieser Zeit im Vergleich zu den Tieren, die nur mit einer physiologischen Salzlösung behandelt worden sind.

509829/0997

Dieser Prozentsatz der Verkürzung der Zeit des Durchlaufens des Labyrinths steht für die Förderung des Lernvermögens. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle I zusammengestellt.

Es läßt sich erkennen, daß die erfindungsgemäßen Produkte das Lernvermögen der Tiere im Vergleich zu den Vergleichstieren (siehe die Untersuchungen des ersten und des zweiten Tags) fördern und in äußerst bemerkenswerter Weise eine bessere Wiederherstellung nach dem Elektroschock am dritten Tage der Untersuchung begünstigen.

Die Anti-Amnesie-Eigenschaften bestimmter Verbindungen sind den entsprechenden Eigenschaften der Vergleichsverbindung Piracetam überlegen.

Die erfindungsgemäßen Produkte besitzen weiterhin den Vorteil, daß sie eine natürliche Peptidstruktur besitzen.

Beispiel 14

Untersuchung der neurotoxischen Wirkungen.

Es ist versucht worden, die stimulierende oder beruhigende Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen auf das zentrale Nervensystem von Mäusen nachzuweisen, wozu die folgenden Tests angewandt wurden: Aktimeter-Test, nach der Technik von DEWS, bei dem die Wirkung auf die spontane Motilität bestimmt wird,

Untersuchung der Verstärkung der Hexobarbitalnarkose und Lochbrett-Test nach Boissier, bei dem die Wirkung auf die Neugierde und den Erforschungsreflex untersucht wird.

Aus den in der Tabelle II angegebenen Ergebnissen ist festzustellen, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen bei den genannten Untersuchungen keine oder nur geringe neurotoxische Wirkungen entfalten.

509829/0997

Die sedative Wirkung der Verbindungen 1 und 4 ist geringer als die thymoanaleptische und antidepressive Wirkung, die man mit äquimolekularen Mengen von Lithium und Dimethylaminoäthanol erzielt.

Beispiel 15

Untersuchung der kardiovaskulären Wirkungen.

Die erfindungsgemäßen Derivate werden in Bezug auf ihre kardiovaskulären Wirkungen am mit Chloral betäubten Hund untersucht.

Es werden die folgenden Parameter bestimmt:

Arterienblutdruck (Statham-Zelle),
Herzkontraktionskraft (Dehnungsmeßstreifen),
ein Elektrokardiogramm in der Ableitung D II,
der Oberschenkelarteriendurchsatz (physiometrischer Meßfühler)
und
die Atmung (Pneumograph).

Die zu untersuchenden Verbindungen werden auf intravenösem Wege verabreicht.

Ergebnisse:

Die Verbindung NAAGA zeigt als einzige keine signifikante Wirkung auf die untersuchten Parameter, weder bei einer Dosis von 5 mg/kg noch bei einer Dosis von 10 mg/kg. Es kann keine Wechselwirkung mit den chemischen Mitteln beobachtet werden.

Demgegenüber zeigt die Verbindung Nr. 3 in einer Dosis von 13,6 mg/kg, die 10 mg/kg NAAGA entspricht, eine erhebliche inotrope Wirkung, die durch die Effekte auf die Herzkontraktionskraft beobachtet werden kann.

Tabelle I

Verbindungen	Dosis in mg/kg des durch Injektion verabreichten wasserfreien Produktes	Prozentsatz der Verminderung der Labyrinth-Durchlaufzeit, verglichen mit den Vergleichstieren				
		1. Tag morgens abends	2. Tag morgens abends	3. Tag nach dem Elektro- schock 15 Minuten 1 Stunde		
NAAGA	30	8 18	32 47	64	88	
Nr. 1	31,6	0 0	0 0	8	50	
Nr. 3	31,6	0 0	70 80	54	63	
Piracetam	30	0 10	61 80	55	41	

Nr. 1 = Lithiumsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren

Nr. 3 = Magnesiumsalze der N-Acetyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren

509829/0997

Tabelle II

Verbindungen	<u>Motilität</u>		<u>Narkoseverstärkung</u>		<u>Lochbrett-Test</u>	
	Dosis	Ergebnisse	Dosis	Ergebnisse	Dosis	Ergebnisse
NAAGA	100 mg/kg i.p. 50 bis 1000 mg/kg p.o.	geringe Verminderung keine Veränderung	100 mg/kg i.p. 300 mg/kg p.o.	keine keine	5 und 25 mg/kg i.p.	Verminderter Erforschungsreflex, äußeres Verhalten nicht modifiziert
Nr. 1	26 und 105 mg/kg i.p.	geringe Verminderung	26 und 105 mg/kg i.p.	geringe Verstärkung	5 und 26 mg/kg i.p.	Verminderung des Erforschungsreflexes, vergleichbar mit derjenigen, die mit einer äquivalenten Dosis NAAGA erreicht wird
Nr. 3	26 und 105 mg/kg i.p. 170 bis 1050 mg/kg p.o.	keine Veränderung keine Veränderung	26 und 105 mg/kg i.p.	geringe Verstärkung	6 und 28 mg/kg i.p.	Verminderung des Erforschungsreflexes, vergleichbar mit derjenigen, die mit einer äquivalenten Dosis NAAGA erreicht wird

509829/0997

Fortsetzung Tabelle II

Verbindungen	Motilität		Narkoseverstärkung		Lochbrett-Test	
	Dosis	Ergebnisse	Dosis	Ergebnisse	Dosis	Ergebnisse
Nr. 4	46 und 185 mg/kg i.p.	schwache sedative Wirkung	128 und 256 mg/kg i.p.	schwacher Effekt	4,5 und 22 mg/kg i.p.	Verminderung des Erforschungs- reflexes

- i.p. = intraperitoneal verabreicht Nr. 1 = Lithiumsalze der N-Acetyl-(α - und β)-asparagyl-
glutaminsäuren
p.o. = per os verabreicht Nr. 3 = Magnesiumsalze der N-Acetyl-(α - und β)-asparagyl-
glutaminsäuren
Nr. 4 = Dimethylaminoethanol-salze der N-Acetyl-(α - und β)-
asparagyl-glutaminsäuren

509829/0997

Weiterhin ergibt die Verbindung Nr. 3 bei schwacher Dosierung eine Verstärkung der Wirkung von Noradrenalin und eine erhebliche Oberschenkelgefäßerweiterung.

Beispiel 16

Untersuchung der allgemeinen Toxizität.

Die akuten Toxizitäten wurden an der Maus bei intraperitonealer und bei oraler Verabreichung untersucht. Die Mortalität wird 8 Tage nach der Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindungen bestimmt. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle III zusammengestellt. Sämtliche Dosierungen sind auf das wasserfreie Produkt bezogen.

Tabelle III

Dosis letalis in mg/kg

Verbindungen	intraperitoneale Verabreichung	orale Verabreichung
NAAGA	700 < DL 50 < 1000	DL 0 > 4800
Nr. 1	1500 < DL 50 < 2100	3000 < DL 50 < 4000
Nr. 3	1500 < DL 50 < 2100	DL 0 > 4200
Nr. 4	DL 0 > 2600	DL 50 > 6275

Nr. 1 = Lithiumsalze der N-Acetyl-(α -und β -)-asparagyl-glutaminsäuren

Nr. 3 = Magnesiumsalze der N-Acetyl-(α und β -)-asparagyl-glutaminsäuren

Nr. 4 = Dimethylaminoäthanol-salze der N-Acetyl-(α und β -)-asparagyl-glutaminsäuren.

Es scheint, daß die Verbindungen Nr. 1 und Nr. 3 bei intraperitonealer Verabreichung eine vergleichbare Toxizität besitzen. Sie sind jedoch in äquimolekularer Dosis im Vergleich zu NAAGA weniger toxisch,

Die Verbindung Nr. 1 besitzt eine Toxizität, die in einer dem

509829/0997

Lithium äquimolaren Dosis geringer ist als die von Lithium-carbonat.

Da der Lithiumgehalt der wasserfreien Verbindung Nr. 1 etwa 6,5% beträgt, ergeben sich die auf die Lithiummenge bezogenen letalen Dosierungen wie folgt:

100 < DL 50 < 135 mg/kg	bei intraperitonealer Verabreichung
200 < DL 50 < 260 mg/kg	bei oraler Verabreichung

Im Vergleich dazu besitzt das in der Therapie zur Behandlung und zur Verhinderung von depressiven Manien verwendete Lithium-carbonat (vgl. Schou "Encéphale", 60 (4), 1971, Seiten 281 bis 295) eine DL 50 von etwa 260 mg/kg bei intraperitonealer Verabreichung an die Maus, was einer Lithiumdosis von 50 mg/kg entspricht.

Die Verbindung Nr. 4 ist in einer in Bezug auf das Dimethyl-aminoäthanol äquimolaren Dosis wesentlich weniger toxisch als Dimethylaminoäthanol. Tatsächlich beträgt der Dimethylamino-äthanolgehalt der Verbindung Nr. 4 47%. Die durch 2600 mg des Derivats Nr. 4 zugeführte Dimethylaminoäthanolmenge beträgt 1220 mg. Somit liegt die DL₅₀ von Dimethylaminoäthanol bei intraperitonealer Verabreichung zwischen 150 und 300 mg/kg.

Beispiel 17

Tabletten

Für die Humantherapie kann man Tabletten verwenden, die vorteilhafterweise die folgende Zusammensetzung besitzen:

Verbindung Nr. 3	0,100 g
Bindemittel ad 1 Tablette mit einem Gewicht von	0,500 g

Dosierung: 2 bis 6 Tabletten täglich.

Beispiel 18

Gelkugeln

Man kann Gelkugeln folgender Zusammensetzung verwenden:

Verbindung Nr. 1	100 mg
Bindemittel ad 1 Gelkugeln mit einem Gewicht von	240 mg

Dosierung: 2 bis 6 Gelkugeln täglich.

Beispiel 19

Ampullen mit trinkbarem Inhalt

Verbindung Nr. 4	1 g
Bindemittel ad 1 Ampulle mit einem trinkbaren Inhalt von	10 ml

Dosierung: 2 bis 3 Ampullen täglich.

Beispiel 20.

Ampullen mit injizierbarem Inhalt

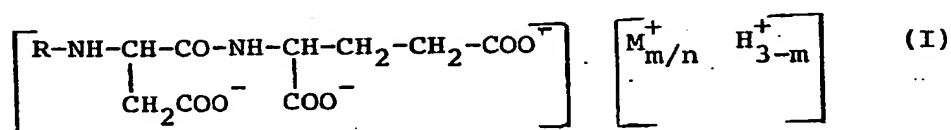
Verbindung Nr. 3	50 mg
Bindemittel ad 1 Ampulle mit 5 ml injizierbarem Inhalt	

Dosierung: 1 bis 2 Ampullen täglich. Ein- bis dreimal täglich durch sehr langsame intravenöse Injektion oder ein- bis zweimal täglich durch intramuskuläre Injektion.

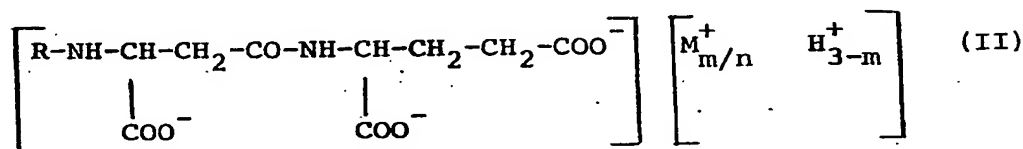
P a t e n t a n s p r ü c h e

1. N-Acyl-(α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren und deren Salze in der L- oder der D,L-Form der folgenden allgemeinen Formeln:

α -Isomeres:



β -Isomeres:



in denen

M ein Kation mit einer Valenz n, das entweder ein Metallkation oder ein Kation einer organischen Verbindung, wie eines Aminoalkohols, einer Aminosäure oder einer quartären Ammoniumverbindung, wie eines Betains oder eines Cholins, R eine Acyl-Gruppe und m eine mit der Zahl der in die Salzform überführten Carboxyl-Gruppen variierende Zahl mit einem Wert von 0 bis 3 mit der Maßgabe, daß m nicht 0 ist, wenn R eine Acetyl-Gruppe darstellt, bedeuten.

2. Verbindungen nach Anspruch 1, d a d u r c h g e k e n n - z e i c h n e t, daß die Gruppe R eine Formyl-, Propionyl-, Isopropionyl-, Butyryl-, Isobutyryl- oder tert.-Butyryl-Gruppe bedeutet.

509829/0997

3. Verbindungen nach den Ansprüchen 1 oder 2, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß m von O verschieden ist und als Kation des Salzes ein Kation eines Alkalimetalls, wie Lithium, Natrium oder Kalium, oder eines Erdalkalimetalls, wie Magnesium, Calcium oder Strontium oder einer organischen Base, wie eines Aminoalkohols, wie Dimethylaminoäthanol oder Diäthylaminoäthanol, einer Aminosäure, wie Lysin, Arginin oder Ornithin oder einer quartären Ammoniumverbindung, wie Betain, Cholin oder Acetylcholin, vorhanden ist.
4. Verbindungen nach Anspruch 3, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß die Gruppe R eine Acetyl-Gruppe bedeutet.
5. Natriumsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
6. Lysinsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
7. Argininsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
8. Ornithinsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
9. Betainsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
10. Dimethylaminoäthanol Salz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
11. Diäthylaminoäthanol Salz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.

12. Cholinsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
13. Lithiumsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
14. Acetylcholinsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
15. Calciumsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
16. Magnesiumsalz der N-Acetyl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
17. Kaliumsalz der N-Propionyl-asparagyl-glutaminsäuren in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
18. Lithiumsalz der N-Butyryl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
19. N-Butyryl-asparagyl-glutaminsäure in Form der α - und/oder β -Isomeren in der L- oder D,L-Konfiguration.
20. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formeln I und II von Anspruch 1 sowie der N-Acetyl- (α - und β -)-asparagyl-glutaminsäuren, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man ein Salz der Glutaminsäure in Gegenwart eines polaren Lösungsmittels, wie Wasser, mit dem entsprechenden N-Acyl-asparaginsäureanhydrid zu einer wässrigen Lösung der Salze der allgemeinen Formeln I oder II umsetzt.
21. Verfahren nach Anspruch 20, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man als Glutaminsäuresalz ein Metallsalz, vorzugsweise ein Alkalimetallsalz oder ein Erdalkali-

509829/0997

metallsalz und insbesondere Natriumglutamat, Kaliumglutamat, Lithiumglutamat, Magnesiumglutamat, Calciumglutamat oder Strontiumglutamat einsetzt.

22. Verfahren nach den Ansprüchen 20 oder 21, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man die Reaktion bei einem pH-Wert zwischen 5 und 9 bei einer Temperatur zwischen -5°C und $+25^{\circ}\text{C}$ und bevorzugter bei einem pH-Wert in der Nähe des Neutralpunktes zwischen 6 und 8 und bei einer Temperatur von etwa 0°C durchführt.
23. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 22, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man das Glutaminsäuresalz und das N-Acyl-asparaginsäureanhydrid in im wesentlichen stöchiometrischen Verhältnissen umsetzt und die Reaktionspartner jeweils in Konzentrationen zwischen 0,5 und 1,5 Mol pro Liter anwendet.
24. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 23, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man vor der Zugabe des N-Acyl-asparaginsäureanhydrids eine wässrige Glutaminsalzlösung herstellt, indem man eine dem Glutamatsalz entsprechende Base nach und nach zu dem genannten Anhydrid derart zusetzt, daß der pH-Wert auf einem Wert zwischen 6 und 8 bleibt.
25. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 24, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man eine Mischung der Salze der N-Acyl- α -asparagyl-glutaminsäure und der N-Acyl- β -asparagyl-glutaminsäure dadurch isoliert, daß man die erhaltene Lösung im Vakuum zur Trockene eindampft, sie gefriertrocknet oder sie durch Sprühtrocknen trocknet.
26. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 24, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man die erhaltene Salzmischung dadurch reinigt, daß man sie mit einem Ionenaustauscherharz behandelt und/oder sie einer Molekularfiltration

über ein Gel unterzieht.

27. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 26, d a -
d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man die
erhaltenen Salze durch Kationenaustausch in die N-Acyl-
 α -asparagyl-glutaminsäure und die N-Acyl- β -asparagyl-
glutaminsäure überführt.
28. Verfahren nach Anspruch 27 zur Herstellung der Amino-
alkohol-, Aminosäure-, Betain- oder Cholin-Salze, d a -
d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man die
N-Acyl- α -asparagyl-glutaminsäure und die N-Acyl- β -
asparagyl-glutaminsäure mit dem Kation der entsprechenden
organischen Verbindung in das Salz überführt.
29. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 28, d a d u r c h
g e k e n n z e i c h n e t, daß man die Lösungen der erhal-
tenen Säuren oder Salze einer fraktionierten Kristallisation
unterwirft, um eine Anreicherung in Bezug auf das
 α -Isomere oder das β -Isomere zu bewirken.
30. Arzneimittel, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
daß es aus mindestens einer Verbindung gemäß einem der
Ansprüche 1 bis 19 als Wirkstoff und einem inerten,
pharmazeutisch verträglichen Trägermaterial oder Bindemittel
besteht.

509829/0997

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.